

**Contribuição ao estudo histoquímico do mesocarpo carnoso e da polpa do fruto verde de *Couroupita guianensis* AUBL. (LECYTHIDACEAE)**

**Contribution to the histochemical study of fleshy mesocarp and pulp of unripe fruit of *Couroupita guianensis* AUBL. (LECYTHIDACEAE)**

DOI:10.34117/bjdv7n9-559

Recebimento dos originais: 07/08/2021

Aceitação para publicação: 30/09/2021

**Maria Inês Teixeira**

Doutora em Ciência de Alimentos

Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro – IFRJ

Rua: Senador Furtado, número 121, laboratório 106 - Ciências Biológicas, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ – CEP:20270-021

E-mail: maria.teixeira@ifrj.edu.br

**Luís Felipe Silva de Lima**

Graduando em Farmácia e Bioquímica – USP

Diretor de Negócios – Biobreyer Pesquisa e Desenvolvimento Científico LTDA.

Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cietec, São Paulo – SP, CEP: 05508-000

E-mail: luisfelipeslima1@usp.br/ luis.lima@biobreyer.com.br

**Marcelo Auday de Pinho Jr**

Graduando em Engenharia de Controle e Automação – CEFET – RJ

Avenida: Maracanã, número 229, Pavilhão IV – Mecânica – Espaço Leonardo Souza e Silva – Venturi Aerodesign, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ – CEP: 20271-110

E-mail: marceloauday.jr@gmail.com

**Monicke Azevedo Queiroz da Rocha**

Técnica em Biotecnologia

Travessa Bernardo nº 52, Encantado/ RJ – CEP:20745-280

E-mail: monickerocha74@gmail.com

**Felipe da Silva Oliveira**

Graduando em Química – Estácio - RJ

Estrada de Jacarepagua,325, fundos-Itanhagá, Rio de Janeiro, RJ

E-mail: felipe147390@gmail.com

**Sheila Abert dos Reis**

Doutora em Ciências Biológicas (Biofísica)

Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro – IFRJ

Rua: Senador Furtado, número 121, laboratório 106 - Ciências Biológicas, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ – CEP:20270-021

E-mail: sheila.reis@ifrj.edu.br

**Cleber Bomfim Barreto**

Doutor em Química de Produtos Naturais

Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro –  
IFRJRua: Senador Furtado, número 121, laboratório 316 – Núcleo de Ciências Químicas -  
NCQ, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ – CEP:20270-021

E-mail: cleber.barreto@ifrj.edu.br

**RESUMO**

*Couroupita guianensis* AUBL. (Lecythidaceae) conhecida como abricó de macaco é uma espécie arbórea de grande porte, originária da floresta amazônica. A árvore apresenta frutos muito grandes e numerosos gerados ao longo de todo o tronco. A polpa e as sementes são comidas por macacos e outros animais. Algumas indicações etnofarmacológicas para esta família vêm sendo reportadas na literatura como atividade anti-hipertensiva, analgésica, anti-inflamatória, dentre outras, sendo usadas cascas e folhas. A espécie *Couroupita guianensis* foi introduzida na cidade do Rio de Janeiro e hoje encontra-se em vários bairros do município. O fruto maduro libera odor forte e desagradável e por isso não é apreciado pelas pessoas. A polpa e o mesocarpo do fruto de abricó de macaco, estando este maduro ou imaturo, escurecem rapidamente logo após a abertura do fruto, não sendo possível o estudo histoquímico e a observação ao microscópio óptico. Este trabalho teve como objetivo utilizar a técnica de branqueamento em amostras de polpa e do mesocarpo carnoso, extraídos de frutos verdes, a fim de realizar o estudo histoquímico para auxiliar na identificação de grupos metabólicos presentes e ampliar os estudos em relação a esta espécie. O branqueamento, técnica comum em processamento de alimentos, consiste em submeter o alimento a água quente por pouco tempo e ao resfriamento rápido (choque térmico) para evitar o escurecimento enzimático do mesmo. O branqueamento permitiu o estudo histoquímico da polpa e do mesocarpo de frutos verdes de abricó de macaco já que impediu o escurecimento das amostras durante os trabalhos. As amostras de polpa e mesocarpo foram mergulhadas em água a 70°C por 1 minuto e imediatamente resfriadas adicionando escamas de gelo sobre as mesmas, onde permaneceram durante os trabalhos. Cortes histológicos foram realizados à mão livre utilizando lâminas de barbear. As secções foram deixadas nos reagentes e logo depois foram lavadas em água destilada, montadas em lâminas e lamínulas e observadas ao microscópio óptico. Os reagentes de caracterização histoquímica utilizados foram Sudan IV para localizar materiais lipídicos, Solução de Lugol para amido, Dicromato de potássio e Cloreto Férrico para compostos fenólicos, dentre outros. Os reagentes evidenciaram lipídios totais, a presença de amido e compostos fenólicos, como o tanino, nas células parenquimatosas da polpa. Os resultados mostram a possibilidade de aproveitamento destes compostos presentes na polpa e no mesocarpo carnoso de frutos verdes de *Couroupita guianensis* para uso na área de alimentos ou na área farmacêutica. O tanino, por exemplo, tem sido associado a ação antimicrobiana e anticarcinogênica.

**Palavras-chave:** *Couroupita guianensis*, abricó de macaco, histoquímica, metabólitos.**ABSTRACTS**

*Couroupita guianensis* AUBL. (Lecythidaceae) known as cannon ball tree is a large arboreal species, originally from the Amazon rainforest. The tree has very large and numerous fruits generated along the entire trunk. The pulp and seeds are eaten by

monkeys and other animals. Some ethnopharmacological indications for this important family are reported in the literature as anti-hypertensive, analgesic, anti-inflammatory, among others, using bark and leaves. The *Couroupita guianensis* species was introduced in the city of Rio de Janeiro and is currently found in several districts of the city. The ripe fruit give off a strong and unpleasant odor and therefore are not liked by people. The fleshy mesocarp and pulp of cannon ball tree fruit, whether ripe or unripe, darkens quickly after opening the fruit, making histochemical study and optical microscopy observation impossible. This work aimed to use a blanching technique in pulp and fleshy mesocarp, extracted from unripe fruits, in order to perform the histochemical study to help identify metabolic groups present and expand the studies in relation to this species. Blanching, a common technique in food processing, consists of submerging the food in hot water for a short time and rapid cooling (thermal shock) to avoid enzymatic browning. Blanching treatment allowed the histochemical study of the fleshy mesocarp and pulp samples of cannon ball tree unripe fruits as it prevented the samples from darkening during the work. The fleshy mesocarp and pulp samples were immersed in water at 70°C for 1 minute and immediately cooled by adding ice flakes over them, where they stayed during the work. Histological cuts were made freehand using razor blades. The sections were left in the reagents and then washed in distilled water, mounted on slides and coverslips and observed under an optical microscope. The histochemical characterization reagents used were Sudan IV to locate lipid materials, Lugol's solution for starch, Potassium Dichromate and Ferric Chloride for phenolic compounds, among others. The reagents used showed total lipids, the presence of starch and phenolic compounds, such as tannin, in the pulp's parenchymal cells. The results show the possibility of using these compounds present in the fleshy mesocarp and pulp of unripe fruits of *Couroupita guianensis* for use in the food or pharmaceutical area. Tannin, for example, has been associated with antimicrobial and anticarcinogenic action.

**Keywords:** *Couroupita guianensis*, cannon ball tree, histochemistry, metabolites.

## 1 INTRODUÇÃO

O abricó-de-macaco (*Couroupita guianensis*) é uma espécie arbórea pertencente à família Lecytidaceae que é constituída de 25 gêneros e 400 espécies, apresentando distribuição pantropical com grande concentração na região tropical da América do Sul, tendo como centro de dispersão a Floresta Amazônica. Apresenta porte arbóreo, além de cauliflora, ou seja, suas flores andróginas e de coloração avermelhada crescem ao longo do tronco. Suas folhas são pecioladas, de limbo inteiro, oblongas, de ápice agudo-acuminado e oblíquas na base (CORRÊA, 1931; REVILLA, 2002). Arranjam-se nas terminações dos ramos em grupos de 6-8 folhas. Seus numerosos frutos são globosos, pesados e de superfície lenhosa, gerados ao longo de todo o tronco após fecundação dos óvulos nas flores. Sua polpa é abundante e de odor característico, de coloração amarelada que vai tornando verde azulada logo após a abertura dos frutos (FERNANDES, 2006; REGINA, 2014). A espécie apresenta fruto do tipo drupisarcídio, indeiscente, com forma

variando de piriforme (imaturo) a globosa (maduro). O epicarpo é externamente lenhoso, homogêneo, de coloração marrom-claro. O endocarpo é lenhoso, glabro, bege, opaco, levemente rugoso e contém uma polpa multispermada, heterogênea e granulosa separada em seis gomos por uma membrana delgada e tênue (SILVA et al., 2015).

Algumas indicações etnofarmacológicas, para esta família (Lecytidaceae), vêm sendo reportadas na literatura como atividade anti-hipertensiva, antitumoral, analgésica, anti-inflamatória, dentre outras, sendo usadas cascas e folhas (REVILLA, 2002; PINHEIRO et al., 2010; SILVA et al., 2015). Os resultados do trabalho de Naveen e colaboradores (2015) indicaram uma possível explicação para o uso de algumas plantas medicinais, dentre elas a *Couroupita guianensis*, contra a malária, eles verificaram alta potência antiplasmódica nos extratos preparados com partes dessas plantas. A malária é uma das doenças incluídas na lista de doenças tropicais negligenciadas, sendo estas uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. De acordo com Guido, Andricopulo e Oliva (2010) para a maioria das doenças negligenciadas tropicais prioritárias nos programas especiais da Organização Mundial da Saúde, as opções terapêuticas são insuficientes e apresentam uma série de problemas, tais como baixa eficácia, elevada toxicidade e a emergência de cepas resistentes. Esse cenário é agravado pelo número limitado e pela falta de inovação nos programas de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de fármacos nesta área. Dessa forma, é essencial a concentração de esforços globais (governo – academia – indústria) para a criação e manutenção de programas de P&D para a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o controle e tratamento dessas doenças.

A espécie *Couroupita guianensis* foi introduzida na cidade do Rio de Janeiro por Roberto Burle Marx (FARAH, 2004) para uso em projetos paisagísticos, devido às suas características ornamentais, e hoje encontra-se em vários bairros do município. Após o amadurecimento dos frutos, os pedúnculos que os sustentam sofrem abscisão promovendo sua queda. Os frutos, pelas suas dimensões e sua massa, podem causar dano material, além do risco de ferimentos aos transeuntes de logradouros públicos onde essa espécie é encontrada, por isso a Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB - do Rio de Janeiro realiza a retirada dos frutos ainda verdes. Após a retirada, os frutos são destinados ao aterro sanitário ou a composteira, sem um maior aproveitamento dos prováveis bioativos presentes, a julgar pelas diversas atividades farmacológicas atribuídas à presença de metabólitos isolados nessa espécie.

A polpa e as sementes são apreciadas por macacos e outros animais, tendo sido sugerido também seu uso em rações para peixes graças ao seu conteúdo em nutrientes (FONTILEI, 2016). O fruto maduro libera odor forte e desagradável e por isso não é apreciado pelas pessoas. A polpa e o mesocarpo do fruto de abricó de macaco, estando este maduro ou imaturo, escurecem rapidamente logo após a abertura do fruto, não sendo possível o estudo histoquímico e a observação ao microscópio óptico.

A histoquímica é uma técnica que tem por objetivo a localização *in situ* dos principais grupos químicos que ocorrem nos tecidos (FIGUEIREDO et al, 2007; SOUSA et al., 2020).

Este trabalho teve como objetivo utilizar a técnica de branqueamento em amostras de polpa e do mesocarpo carnoso extraídos de frutos verdes, a fim de realizar o estudo histoquímico para auxiliar na identificação de classes de metabólitos secundários presentes em *Couroupita guianensis* e ampliar os estudos em relação a esta espécie.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte do Projeto de Pesquisa sobre a espécie *Couroupita guianensis* desenvolvido no IFRJ Campus Rio de Janeiro e está inscrito no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen MMA, sob o número de cadastro A2FF918.

### 2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS MOSTRAS

Os frutos utilizados neste trabalho foram coletados de árvores presentes em praças na Zona Sul da Cidade do Rio de Janeiro, cujas coordenadas geográficas são -22.9814185,-43.2210866; -22.9802847,-43.2059329.

Os frutos coletados ainda verdes pesaram de 3,5 a 4,0 Kg. Amostras do mesocarpo carnoso e da polpa foram extraídas após a abertura dos frutos e submetidos à técnica de branqueamento. As amostras foram submetidas à temperatura de 70°C/1min. e imediatamente imersas em escamas de gelo, onde permaneceram durante os trabalhos.

### 2.2 ANÁLISES HISTOQUÍMICAS

As amostras da polpa e do mesocarpo carnoso foram retiradas do gelo e os cortes histológicos foram realizados à mão livre utilizando lâminas de barbear. As seções para as análises foram tratadas com os reagentes, montadas entre lâminas e lamínulas e posteriormente fotografadas ao microscópio óptico Nikon Eclipse E200. As seções

controle foram deixadas em água, sem nenhum corante ou reagente, montadas sobre lâminas e fotografadas para a comparação com as seções tratadas. Os protocolos respectivos foram seguidos para os grupos de metabólitos estudados. Os grupos de metabólitos pesquisados estão relacionados na tabela 1. O programa ImageJ de acesso aberto e livre, criado para auxiliar pesquisas em Ciências Biológicas (INCT-HVFF, 2021), foi utilizado para a calibração e a inclusão de barras de escala nas imagens.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O fruto de *Couroupita guianensis* consiste de um pericarpo dividido em exocarpo ou epicarpo lenhoso, mesocarpo carnoso, endocarpo lenhoso e polpa dividida em 6 gomos contendo várias sementes (SILVA *et al*, 2015). A figura 1 mostra um fruto aberto contendo indicações de suas partes. As amostras utilizadas para os trabalhos foram as classificadas como mesocarpo carnoso e polpa da placenta.

A polpa e o mesocarpo do fruto de abricó de macaco, estando este maduro ou imaturo, escurecem rapidamente logo após a abertura do fruto, não sendo possível o estudo histoquímico e a observação ao microscópio óptico. Por esta razão, foi utilizada a técnica de branqueamento.

A técnica histoquímica associa à histologia um aspecto químico, o da determinação da natureza das substâncias presentes nos tecidos e da sua localização (FIGUEIREDO *et al*, 2007; SOUSA *et al.*, 2020).

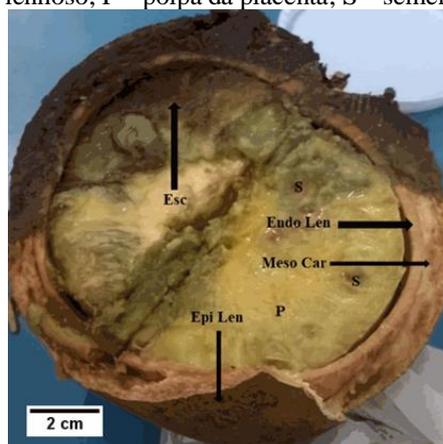
Tabela 1. Compostos metabólitos investigados nas amostras de polpa e de mesocarpo carnoso de frutos verdes de *Couroupita guianensis*.

Composto	Reagente	Coloração	Referência
Alcaloides	Dragendorff	Castanho avermelhado	Svendsen e Verpoorte, 1983.
Amido	Lugol, Cloreto de Zinco Iodado	Roxo ou castanho Preto azulada	Jensen, 1962. Jensen, 1962.
Celulose	Cloreto de Zinco Iodado	Azul acinzentado	Jensen, 1962.
Fenólicos	Cloreto Férrico, Dicromato de Potássio,	Pode variar do verde intenso, púrpura, azul a negro Castanho-avermelhado a castanho escuro	Johansen, 1940 Gabe, 1968
Lactonas Sesquiterpênicas	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Concentrado	Vermelho-acastanhado	Geissman e Griffin, 1971
Lignina	Floroglucina Ácida	Vermelho	Johansen, 1940.
Lipídios Totais	Sudan IV	Vermelho	Johansen, 1940.
Mucopolissacarídeos Ácidos	Azul de Alcian	Azul turquesa	Pearse, 1980.
Mucilagens	Vermelho de Rutênio	Rosa brilhante	Gregory e Baas, 1989.
Pectina	Vermelho de Rutênio	Rosa intenso (parede vegetal)	Johansen, 1940.
Proteína	Ácido Pírico	Amarelo	Johansen, 1940
Taninos	Cloreto Férrico	Azul ou Verde	Johansen, 1940

O branqueamento é uma técnica realizada em alimentos de origem vegetal antes do processo de congelamento, secagem ou enlatamento. Consiste em submeter o vegetal a temperaturas de 70 a 80°C por um tempo que pode variar de 1 a 10 minutos e é rapidamente resfriado (EMBRAPA, 2020). Esta técnica, dentre outras características, inativa enzimas, como as polifenoloxidasas que levam ao escurecimento enzimático (SILVA et al, 2020).

No presente trabalho o branqueamento permitiu o estudo histoquímico a fresco em amostras da polpa da placenta e do mesocarpo carnoso de frutos verdes de abricó de macaco, já que impediu o escurecimento das amostras durante os trabalhos. Outros autores demonstraram análises histoquímicas em sementes de *C. guianensis* fixadas em glutaraldeído (SILVA et al., 2015) e análises histoquímicas realizadas no caule, folha, flor e na casca do fruto de *C. guianensis* Aubl., utilizando uma mistura de formalina, ácido acético e álcool (REGINA, 2014).

Figura 1. Fruto aberto de *Couroupita guianensis*: Epi Len – epicarpo lenhoso; Meso Car – mesocarpo carnoso; Endo Len – endocarpo lenhoso; P – polpa da placenta; S – semente; Esc – escurecimento da polpa



Fonte: elaborado pela autora.

Os resultados obtidos após a realização dos testes histoquímicos evidenciaram classes de compostos do metabolismo primário, como lipídios totais, proteínas e carboidratos, e do metabolismo secundário como compostos fenólicos totais, alcaloides e lactonas sesquiterpênicas.

Todos os metabólitos especiais, ou metabólitos secundários, são derivados de componentes do metabolismo basal, ou metabólitos primários (SIMÕES *et al.*, 2017). Em geral, os metabólitos secundários pertencem a uma das três principais classes de moléculas: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados (RASKIN *et al.*, 2002 apud BORGES e AMORIM, 2020).

Os metabólitos secundários são específicos para as espécies ou gêneros e se acumulam em diferentes regiões das plantas. O tipo e a quantidade desses compostos fitoquímicos depende da parte da planta que eles foram isolados e extraídos. As plantas produzem esses compostos como autodefesa contra fatores bióticos e abióticos (SHEBA e VENKATRAMAN, 2021). Diversos metabólitos secundários têm sido validados quanto à eficácia biológica e farmacológica e à segurança de uso como compostos bioativos no desenvolvimento de novos produtos de interesse agroindustrial e farmacêutico (SIMÕES *et al.*, 2017).

Quanto à estrutura anatômica, o mesocarpo carnoso do fruto de *Couroupita guianensis* apresenta tecidos de reserva (parênquima), de sustentação (colênquima e esclerênquima), tecido vascular e idioblastos.

A lignina do xilema e fibras do mesocarpo foram marcadas pela Floroglucina Ácida em vermelho ou em magenta (Fig. 2a-b). Foi possível observar os feixes vasculares e as fibras (Fig. 2b) presentes no mesocarpo ao longo de todo o cilindro, tanto próximos ao epicarpo lenhoso quanto próximos ao endocarpo lenhoso.

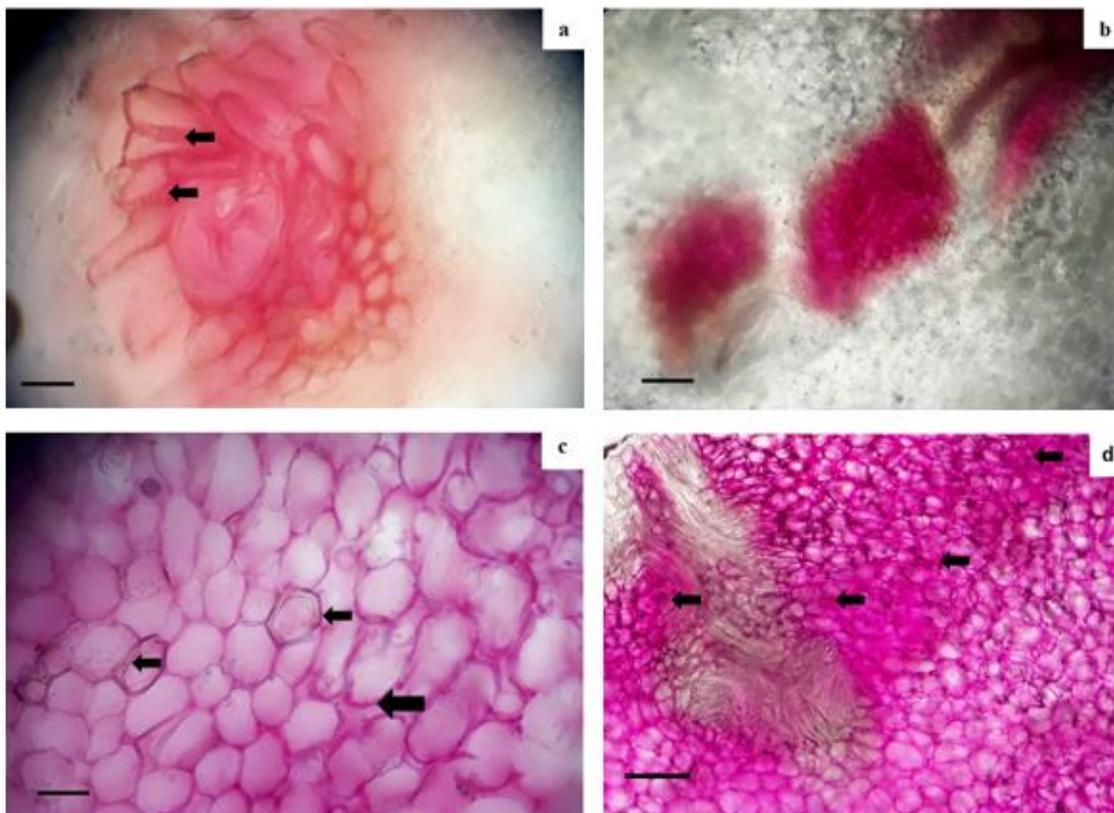
Na sua composição química, a parede celular apresenta celulose, hemicelulose, substâncias pécnicas e lipídicas, proteínas e, em algumas ainda, lignina (RODRIGUES, AMANO e ALMEIDA, 2015). As ligninas são macromoléculas, polímeros de unidades básicas C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, em geral abrangendo muitas unidades fenilpropânicas (SIMÕES *et al.*, 2017). A lignina é um componente da parede celular de vários tipos de tecidos de suporte e condução, especialmente elementos do xilema (traqueídeos e elementos dos vasos) (TAIZ e ZEIGER, 2009 apud BORGES e AMORIM, 2020) além disso tem funções protetoras significativas nas plantas, bloqueando o crescimento de patógenos (MOURA *et al.*, 2010 apud BORGES e AMORIM, 2020).

O Vermelho de Rutênio evidenciou, em rosa, a pectina da parede celular (Fig. 2c) das células do mesocarpo e mucilagens em idioblastos (Fig. 2d). Estes foram observados, principalmente, próximos aos feixes vasculares.

As substâncias pécnicas são polímeros formados por ácidos galacturônicos que se subdividem em três grupos: protopectina, pectina e ácido pécnico (RODRIGUES, AMANO e ALMEIDA, 2015). A protopectina é abundante em frutos verdes que já tenham atingido o pleno desenvolvimento. As pectinas comerciais classificam-se no Brasil como aditivos, para os quais o Ministério da Saúde aprova a inclusão nos alimentos com a função de estabilizante, espessante e geleificante (LICODIEDOFF, 2008).

O reagente Cloreto de Zinco Iodado corou em azul acinzentado a celulose das paredes primárias (Fig. 3a) e evidenciou grãos de amido (setas) em algumas células parenquimáticas do mesocarpo. Grãos de amido, em algumas células do parênquima, também foram confirmados com o reagente Lugol (Fig. 3b).

Figura 2. Feixe vascular no mesocarpo do fruto de *C. guianensis* (a), pontoações são visíveis nestas células de parede secundária (setas); feixes vasculares e fibras presentes no mesocarpo ao longo de todo o cilindro (b), a Floroglucina Ácida marcou a lignina com coloração vermelha ou magenta; células parenquimáticas do mesocarpo marcadas em rosa intenso (c) pelo Vermelho de Rutênio evidenciando a pectina da parede celular (seta maior em c - mais evidente) e mucilagens em idioblastos (setas em d), pontoações são visíveis (setas menores em c); barras: a, c = 50  $\mu$ m e b, d = 200  $\mu$ m.

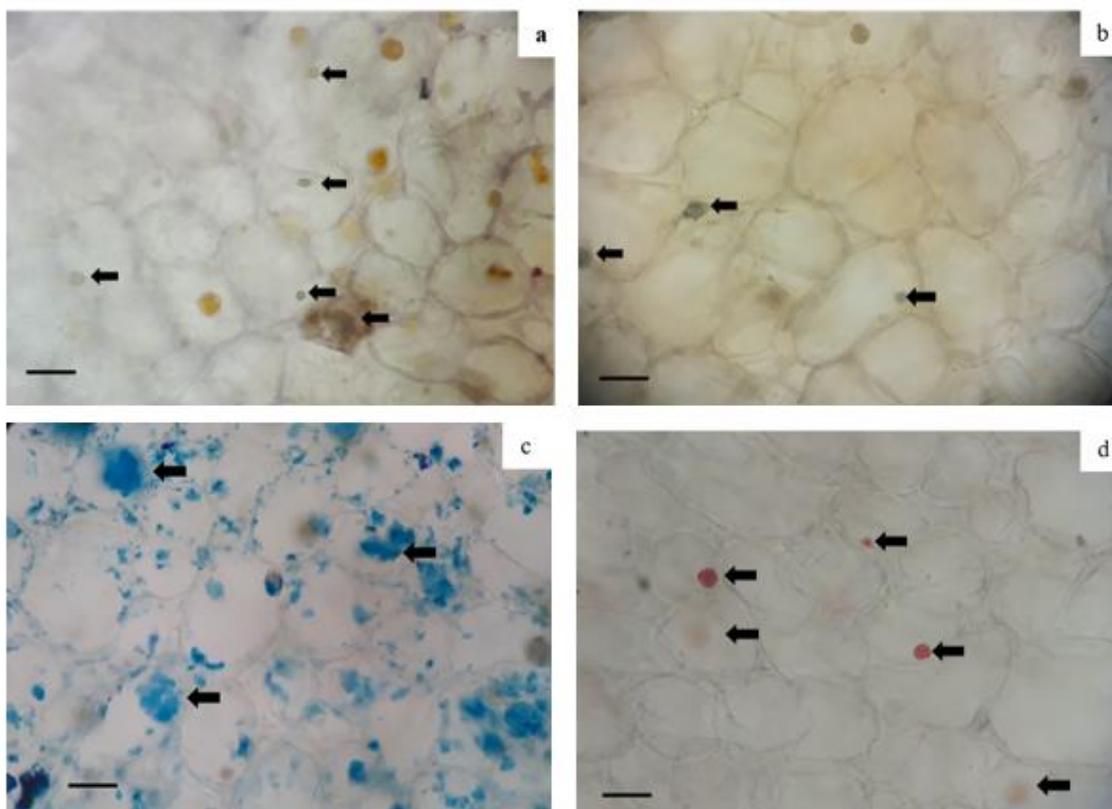


O reagente Azul de Alcian reagiu aos mucopolissacarídeos ácidos (Fig. 3c) resultando na cor azul turquesa (setas) em células do parênquima. O reagente Sudan IV marcou lipídios totais (Fig. 3d) em vermelho tanto em células parenquimáticas (setas – gotículas de óleo) como também o interior do tecido vascular.

Os resultados dos testes histoquímicos para os grupos de metabólitos secundários foram surpreendentes nas amostras de mesocarpo, principalmente para fenólicos totais. Os resultados sugerem que o aproveitamento do mesocarpo de frutos verdes é promissor para finalidades mais nobres como, por exemplo, seu uso para a produção de medicamentos do que seu descarte em composteiras.

Os metabólitos secundários desempenham um papel chave na determinação das atividades biológicas, como antimicrobianas, antioxidante, anticâncer, antiinflamatório, etc. Por exemplo, vários compostos bioativos agem como antioxidantes, neutralizando os radicais livres, desempenhando assim um papel na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (SHEBA e VENKATRAMAN, 2021).

Figura 3. Cloreto de Zinco Iodado marcou a parede celulósica das células parenquimáticas em azul acinzentado (a) e grãos de amido em azul (setas) presentes em algumas células; o reagente Lugol (b) confirmou a presença de grãos de amido (setas) em algumas células do mesocarpo; mucopolissacarídeos ácidos (c) foram marcados em azul turquesa pelo reagente Azul de Alcian (setas); lipídios totais (d) foram evidenciados pelo Sudan IV (setas – gotículas de óleo); barras: a-d = 50 µm.



Os Alcaloides foram evidenciados no mesocarpo como precipitados castanho avermelhados no interior das células do parênquima após a reação com o reagente Dragendorff (Fig. 4a).

Um alcaloide é uma substância orgânica cíclica contendo nitrogênio em um estado de oxidação negativo que possui uma distribuição limitada entre os organismos vivos. Operam em uma diversidade de alvos, sendo especialmente reconhecidos por apresentarem características de neurotransmissores e por seu potencial citotóxico (SIMÕES et al, 2017). Eles agem em neurotransmissores químicos, como dopamina, GABA, acetilcolina e serotonina. Os alcaloides são bem conhecidos por suas atividades

antiarrítmica, antimalárica e atividade hipoglicemiante. E têm sido usados em tratamentos contra o câncer. (SHEBA e VENKATRAMAN, 2021).

Os fenólicos totais foram evidenciados pelo reagente Cloreto Férrico (Fig. 4b) em diferentes cores como azul, castanho, castanho escuro, verde, em praticamente todas as células e em diferentes tecidos do mesocarpo. O reagente Dicromato de Potássio confirmou o resultado e marcou os fenólicos em castanho avermelhado (Fig. 4c-d).

A coloração azul, da reação com solução de cloreto férrico, indica possível presença de taninos hidrolisáveis ou gálico, e a coloração verde de taninos condensados ou catéquico. Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água. Formam complexos insolúveis com alcalóides, gelatina e outras proteínas (é a base para as propriedades de controle de insetos, fungos e bactérias). São responsáveis pela adstringência de muitos frutos (ANDRADE, 2005).

Quimicamente, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Dentre eles destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI & NACZK, 1995 apud ANGELO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres. Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose e câncer (RAMARATHNAM et al, 1995 apud ANGELO e JORGE, 2007).

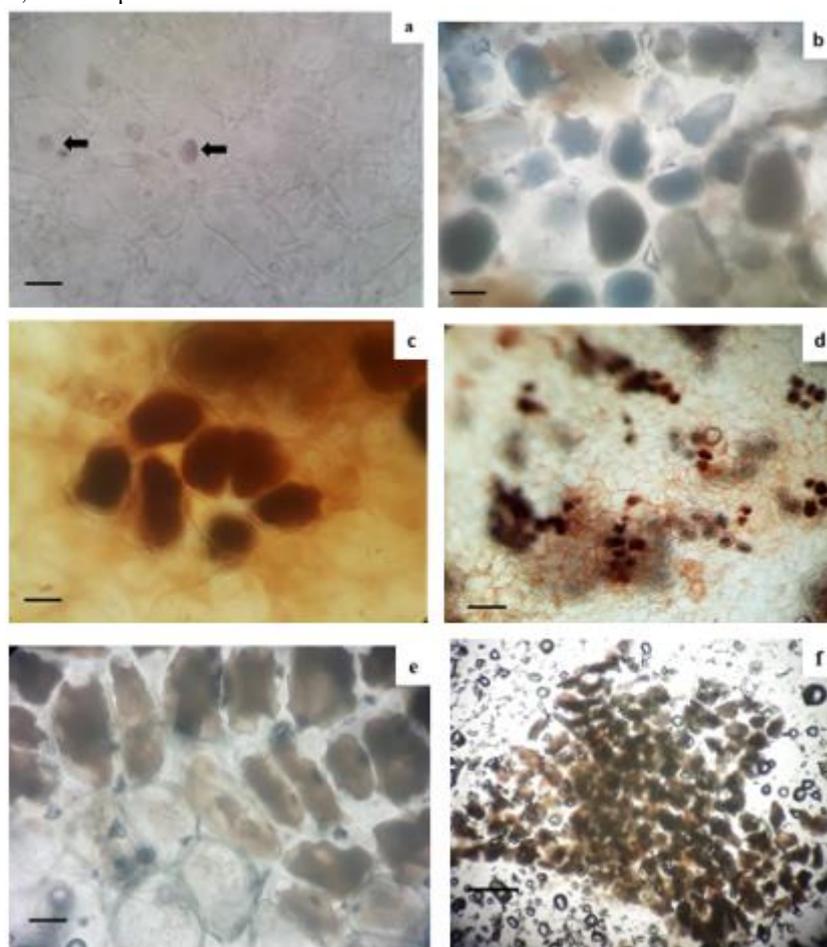
Pesquisas sobre atividade biológica dos taninos evidenciaram importante ação contra determinados microrganismos, como agentes carcinogênicos e causadores de toxicidade hepática. Estes últimos efeitos, sem dúvida, dependem da dose e do tipo de tanino ingerido. A ingestão de chá verde e de dietas ricas em frutas que contêm taninos, por ex., tem sido associada com atividade anticarcinogênica (MONTEIRO, ALBUQUERQUE e ARAÚJO, 2005). Nagesh e colaboradores (2018) acreditam que ácidos tânicos (AT) possam ser uma nova monoterapia natural ou um agente de combinação para o câncer de próstata. Seus dados demonstraram a capacidade de AT inibirem o crescimento das células cancerosas da próstata.

SHEBA e VENKATRAMAN (2021) encontraram alto teor de fenólicos, em análises quantitativas, na polpa em pó de *C. guianensis*. Eles também verificaram que a polpa do fruto possui maior quantidade de flavonoides, seguido de taninos e saponinas.

Em relação às atividades farmacológicas dos flavonoides, destacam-se as ações antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (SIMÕES et al., 2017).

O reagente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado revelou lactonas sesquiterpênicas em castanho avermelhado (Fig. 4e-f).

Figura 4. Alcaloides (setas em a) marcados com Dragendorff; fenólicos totais marcados com Cloreto Férrico, em várias cores (b); fenólicos marcados em castanho avermelhado com Dicromato de Potássio (c, d); lactonas sesquiterpênicas (e, f) marcadas em castanho avermelhado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado; barras a-c, e = 50 µm, d, f = 200 µm.



Devido ao seu amplo espectro de atividade biológica, as lactonas sesquiterpênicas constituem uma classe de substâncias com potencial para utilização na medicina, destacando-se as atividades citotóxica e antitumoral, antibacteriana, antiinflamatória, esquistossomicida, antimalárica e antifúngica. Pela possibilidade de atividade herbicida e/ou reguladora sobre o crescimento de plantas, no setor da agricultura as lactonas

sesquiterpênicas também apresentam grande potencial de aplicabilidade (BARBOSA e MALTHA, 2002).

Nas condições de estudos, aparentemente, os resultados dos testes histoquímicos realizados nas amostras de polpa da placenta de frutos verdes de *C. guianensis* (Fig. 5a-f) mostraram mais células parenquimáticas com conteúdo de amido (Fig. 5c-d), tanto com Cloreto de Zinco Iodado como com Lugol, do que o que foi observado nas células do parênquima do mesocarpo com os mesmos reagentes. E também, aparentemente, mais células contendo lipídios totais (Fig. 5e), marcados com Sudan IV, do que foi observado com as células do mesocarpo. Entretanto, foi observado um menor número de células com conteúdo de compostos fenólicos totais, com o reagente Cloreto Férrico, nas células da polpa da placenta do que foi observado com as células do mesocarpo carnoso. Os resultados nas amostras de polpa, após os testes com o Cloreto Férrico, mostraram áreas menores e esparsas por todas as células na coloração azul (Fig. 5b).

O ácido pícrico é um agente fixador e também é um reagente para precipitar proteínas (DHALE, 2011; NUNES e CINSA, 2016). Com este reagente foi possível observar a cor amarela, indicativo de precipitação proteínas em algumas células da polpa (Fig. 5f) e alguns campos primários de pontuação.

#### 4 CONCLUSÕES

A técnica de branqueamento utilizada nas amostras de mesocarpo carnoso e na polpa da placenta de frutos verdes de *Corroupita guianensis* antes dos testes histoquímicos, contribuiu para que estes fossem bem-sucedidos, uma vez que as amostras não escureceram durante os trabalhos. Os testes histoquímicos permitiram detectar e localizar grupos de metabólitos primários e secundários nos diferentes tecidos.

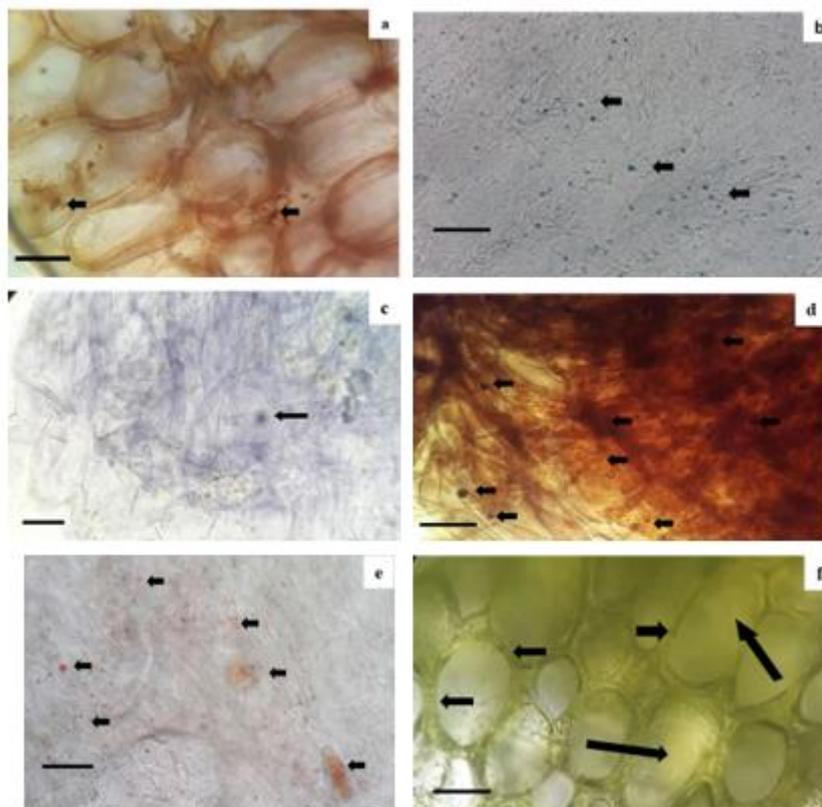
A polpa da placenta, aparentemente, apresentou mais células com conteúdo de amido e também células contendo lipídios totais do que as que foram observadas no mesocarpo.

Os reagentes Cloreto Férrico e Dicromato de Potássio revelaram fenólicos em praticamente todas as células e em diferentes tecidos no mesocarpo. Em relação às células da polpa, o reagente Cloreto Férrico revelou, aparentemente, menor presença de fenólicos totais do que a observada em células do mesocarpo.

Alcaloides e lactonas sesquiterpênicas também foram marcadas em várias células do mesocarpo.

Todos estes grupos de compostos estão ligados às atividades farmacológicas descritas para esta espécie. Por isso, estes resultados são promissores e mostram que tanto o mesocarpo carnoso quanto a polpa da placenta de frutos verdes de *C. guianensis* poderiam ser aproveitados dada as quantidades expressivas desses metabólitos secundários que os frutos verdes podem conter e também pelo grande número de frutos produzidos por árvore. Na cidade do Rio de Janeiro, por exemplo, algumas árvores chegam a produzir 200 frutos por vez.

Figura 5. Células parenquimáticas da polpa do fruto de *C. guianensis* coradas com Floroglucina ácida (a) contendo reservas (setas); fenólicos totais marcados com Cloreto Férrico em azul (b – setas); amido marcado com cloreto de zinco iodado (c - seta); muitos grãos de amido em células do parênquima (d) marcados com solução de Lugol em castanho escuro e preto (setas); lipídios totais identificados com Sudan IV (e) em todas, ou praticamente todas, as células parenquimáticas (setas - gotículas de óleo); precipitado proteico em amarelo (f - setas maiores), campos primários de pontoação são visíveis nestas células de parede primária (setas menores); barras a, b, d-f = 20  $\mu$ m e c = 15  $\mu$ m.



### AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, à PROPPI, ao Campus Rio de Janeiro, ao CNPq e à FAPERJ pela permissão de execução do projeto, concessão de bolsas e pelo auxílio à pesquisa.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (INCT-HVFF) que conta com apoio financeiro do Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por disponibilizar o Guia que descreve o processo de calibração e inclusão de escalas nas imagens.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, GLÁUCIA APARECIDA. Propriedades herbicidas de metabólitos secundários presentes nos extratos de caule e raiz de caryocar brasiliense (pequi). Dissertação de Mestrado. UFU, Uberlândia, MG, 2005. Encontrado em <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/26772>> Acesso em 31/08/2021
- ANGELO, PRISCILA MILENE e JORGE, NEUZA. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 66(1): 1-9, 2007. Encontrado em <<http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v66n1/v66n1a01.pdf>> Acesso em 24/08/2021.
- BARBOSA, LUIZ CLÁUDIO DE ALMEIDA e MALTHA, CÉLIA REGINA ÁLVARES. Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de lactonas derivadas do 2,4-dimetil-8-oxabicyclo[3.2.1]-oct-6-en-3-ona. Quim. Nova, Vol. 25, No. 2, 203-208, 2002. Encontrado em <<https://www.scielo.br/j/qn/a/gzVYFf77JYq3vBPZPJSYwbT/?lang=pt&format=pdf>> Acesso em 01/09/2021.
- BORGES, LARISSA PACHECO e AMORIM, VÍCTOR ALVES. Metabólitos Secundários de Plantas. Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020. Encontrado em <<file:///C:/Users/In%C3%AAs/Downloads/9705-Texto%20do%20artigo-36865-1-10-20200309.pdf>> Acesso em 25/08/2021.
- CORRÊA, M. P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Vol. 2. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. p.121. 1931.
- DHALE, D. A. Histochemical investigation of some medicinal plantsarpb. 2011; Vol 1(2). Encontrado em <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.404.1022&rep=rep1&type=pdf>> Acesso em 01/09/2021.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Documentos nº 40, julho, 2000. ISSN - 1516-8247. Encontrado em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/34377/1/2000-DOC-0040.pdf>> Acesso em 20/08/2021.
- FARAH, I. M. C. (2004). Árvores e população: as relações que se estabelecem no contexto da cidade. Paisagem e Ambiente, (18), 99-120. Encontrada em <<https://www.revistas.usp.br/paam/article/view/40213/43079>> Acesso em 10/08/2021.
- FERNANDES, S.B.O. Estudo Químico e Farmacológico de Folhas e Flores de Couroupita guianensis Aubl. Rio de Janeiro, RJ. Dissertação de mestrado. NPPN/ UFRJ. 2006. 136p. Encontrado em <[http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=43018](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=43018)> Acesso em 05/01/2010.
- FIGUEIREDO ACS, BARROSO JMG, PEDRO LMG e ASCENSÃO L. 2007. Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, ed. 1, 80 p.

FONTILEI, ANTONIO TADEU BARBOSA DOS SANTOS. Utilização da castanha de macaco (*Couroupita guianensis*), como ingrediente alternativo na formulação de ração para alimentação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em cativeiro. Tese, 129p. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, 2016 Encontrado em <<https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/5333>> Acesso em 10/08/2021

GABE M. *Techniques Histologiques*. Paris: Masson et Cie; 1968.

GEISSMAN TA, GRIFFIN TS. Sequiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure 322 determination. *Phytochemistry*. 1971; 10(10): 2475-2485.

GREGORY, M. & BAAS, P. A survey of mucilage cells in vegetative organ of dicotyledons. *Isr. J. Bot.* 1989; 38. 125-174.

GUIDO, R.V.C., ANDRICOPULO, A.D. e OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estudos avançados* 24 (70), 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v24n70/a06v2470.pdf>> acesso em 02 de setembro de 2016.

INCT-HVFF Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Herbário Virtual da Flora e dos Fungos, 2021. Guia de calibração e inclusão de escalas nas imagens. Encontrado em <<http://inct.florabrasil.net/calibracao-inclusao-de-escalas/>> Acesso em 20/08/2021.

JENSEN, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles And Practice*. San Francisco: W. H. Freeman. 408p.

JOHANSEN DA. *Plant Microtechnique*. 1th ed. New York and London: McGraw-Hill Books Company; 1940.

LICODIEDOFF, SILVANA. Influência do teor de pectinas comerciais nas características físico-químicas e sensoriais da geléia de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2008. Encontrado em <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/14842/Microsoft%20Word%20-%20Defesa%20Completa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 25/08/2021.

MONTEIRO, JULIO MARCELINO; ALBUQUERQUE, ULYSSES PAULINO DE e ARAÚJO, ELCIDA DE LIMA. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 5, 892-896, 2005. Encontrado em <[http://quimicanova.s bq.org.br/detalhe\\_artigo.asp?id=3220](http://quimicanova.s bq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=3220)> Acesso em 01/09/2021.

NAGESH, PRASHANTH K.B.; HATAMI, ELHAM; CHOWDHURY, PALLABITA; KASHYAP, VIVEK K.; KHAN, SHEEMA; HAFEEZ, BILAL B.; CHAUHAN, SUBHASH C.; JAGGI, MEENA e YALLAPU, MURALI M. Tannic Acid Induces Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis in Prostate Cancer. *Cancers* 2018, 10, 68; doi:10.3390/cancers10030068. Encontrado em < <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/3/68/htm>> Acesso em 05/09/2021.

NAVEEN K KAUSHIK at al. Evaluation of antiplasmodial activity of medicinal plants from North Indian Buchpora and South Indian Eastern Ghats. *Malaria Journal*, 1-8. 2015. Disponível em < <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-015-0564-z>> acesso em 02 de setembro de 2016.

NUNES, CLARISSA DE SOUZA e CINSA, LAETITIA ALVES. Princípios do processamento histológico de rotina. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, v. 8, n. único, p. 31-40, 2016. Encontrado em <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/11/964830/2884-8890-1-sm.pdf>> Acesso em 01/09/2021.

PEARSE, AGE. *Histochemistry: theoretical and applied*. 4th. Ed. Longman group Limited.1980.

PINHEIRO, M. M. G., BESSA, S. O., FINGOLO, C. E., KUSTER, R. M., MATHEUS, M. E., MENEZES, F. S., & FERNANDES, P. D. (2010). Antinociceptive activity of fractions from *Couroupita guianensis* Aubl. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 407–413.

REGINA, V. Pharmacognostical Studies of Various Parts of *Couroupita guianensis* Aubl. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.* 2014, 1(3): 17-26. Encontrado em <<http://www.ijcrbp.com/vol-1-3/V.%20Regina.pdf>> Acesso em 24/08/2021.

REVILLA, J. *Plantas úteis da bacia amazônica*, Manaus: SEBRAE-AM/INPA, 2002. Vol. 1, p.445.

RODRIGUES, ANA CLÁUDIA; AMANO, ERIKA; ALMEIDA, SERGIO LUIZ de. *Anatomia Vegetal - Florianópolis: Biologia/EaD/UFSC*, 2015. 152 p. Encontrado em <<https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Anatomia-Vegetal.pdf>> Acesso em 25/08/2021. ISBN: 978-85-61485-27-6.

SHEBA, Lawrence Anna e VENKATRAMAN, Anuradha. Physicochemical Characterization, Phytochemical and HPTLC Fingerprinting Studies on Fruit of *Couroupita Guianensis*. *CMU J. Nat. Sci.* 2021, 20(4): e2021078. Encontrado em <[https://cmuj.cmu.ac.th/cmu\\_journal/count.php?journal\\_list\\_id=778](https://cmuj.cmu.ac.th/cmu_journal/count.php?journal_list_id=778)> Acesso em 28/08/2021.

SILVA, REJANE MARIA da; RIBEIRO, RAYANE de TASSO MOREIRA; COUTINHO, DIOGENES JOSÉ GUSMÃO; SILVA, SUZENE IZÍDIO da; GALLÃO, MARIA IZABEL. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Couroupita guianensis* Aubl. (LECYTHIDACEAE) *Rev. Inst. Flor.* v. 27 n. 1 p. 7-17 jun. 2015. Encontrado em <<http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rif.2015.001>> Acesso em 24/08/2021. ISSN impresso 0103-2674/on-line 2178-5031

SILVA, ELEN VANESSA COSTA da; SILVA, JOSYANE BRASIL da; HONORATO, ANA JESSICA MENDES; GARCIA, SHEYLLE MARINA MARTINS; SILVA, NATACIA DA SILVA e; SILVA, SABRINA BALEIXO da. Aplicação do algoritmo k-nearest neighbor para classificação de métodos de controle enzimático em frutas. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 10819-10830 mar. 2020. ISSN 2525- 8761. Encontrado em <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/download/7443/6487>> Acesso em 24/08/2021.

SIMÕES, C. M. O. ; SCHENKEL, E. P. ; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A. e PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre, RS, Artmed, 2017.

SOUSA, J. S. P de; FRANÇA, J. P. de; FRANÇA, L. P. de; CHAVES, A. L. F. C.; CONCEIÇÃO, A. O. da. Caracterização histoquímica de órgãos vegetativos de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) ocorrente no sul da Bahia. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 6, n. 8, p. 63840-63848 aug. 2020. ISSN 2525-8761. Encontrado em <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/15930>> Acesso em 24/08/2021.

SVENDSEN, AB & VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. Elsevier Scientific Publishing Company, New York. 1983.